Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. A. Greither)

EINFLUSS VON CHLOROQUIN (RESOCHIN®) AUF DIE HEXACHLOR BENZOL-INDUZIERTE PORPHYRIE DER RATTE
- UNTERSUCHUNGEN IN URIN, LEBER UND HAUT -

von

Wolfgang VIZETHUM, Klaus BOLSEN, Dieter DAHLMANN
und Günter GOERZ

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Dieter Dahlmann

Düsseldorf 1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544323_0075

Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. A. Greither)

EINFLUSS VON CHLOROQUIN (RESOCHIN®) AUF DIE HEXACHLOR BENZOL-INDUZIERTE PORPHYRIE DER RATTE
- UNTERSUCHUNGEN IN URIN, LEBER UND HAUT -

von

Wolfgang VIZETHUM, Klaus BOLSEN, Dieter DAHLMANN
und Günter GOERZ

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Dieter Dahlmann

Düsseldorf 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf Prof. Dr. med. H. Reinauer

Referent Prof. Dr. med. G. Goerz
Correferent Prof. Dr. med. dent. Fr. Schübel

Meinen Eltern und meiner lieben Frau in Dankbarkeit
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. EINLEITUNG 1

II. EXPERIMENTELLER TEIL 3

1. Material und Methoden 3

a) Tiere und Behandlung 3
b) Versuchsanordnung 3
c) Methoden 4
d) Materialien und Reagenzien 7

2. Ergebnisse 7

III. DISKUSSION 10

IV. ZUSAMMENFASSUNG 14

V. LITERATUR 15

I. EINLEITUNG

Zur Behandlung der Porphyria cutanea tarda (PCT) stehen uns heute wirksame Therapie-Möglichkeiten zur Verfügung (1):
Die Aderlaß-Therapie nach IPPEN (2), die Chloroquin-Behandlung (insbesondere in der niedrigen Dosierung) nach KORDAC und SEMRADOVA (3) und eventuell die Kombination beider Behandlungsmaßnahmen (4, 5).

Der eigentliche Wirkungsmechanismus der Aderlaß-Therapie ist heute noch nicht abgeklärt (4). Das Gleiche gilt mit gewissen Einschränkungen für die Chloroquin-Wirkung bei der menschlichen PCT. SCHOLNICK u. Mitarb. (6, 7) konnten allerdings nachweisen, daß sich bei der DDC[1)]-induzierten Porphyrie (8) zwischen Chloroquin und den Porphyrinen Komplexe ausbilden und so eine vermehrte Porphyrin-Ausscheidung mit dem Urin erfolgt. Die DDC-induzierte Porphyrie bei den Versuchstieren (9) beruht auf einer Hemmung der Ferrochelatase (EC 4.99.1.1) mit nachfolgender Induktion der δ-Aminolaevulinsäure-Synthetase (EC 2.3.1.37). Bei der menschlichen Porphyrie liegt jedoch ein Defekt der Uroporphyrinogen-Decarboxylase (EC 4.1.1.37) der Leber (10) und der Erythrozyten (11) ohne Vermehrung der δ-Aminolaevulinsäure-Synthetase vor. Ein wesentlich besser mit der menschlichen Porphyria cutanea tarda vergleichbares,

---

1) DDC = 3,5-Diaethoxycarbonyl-1,4-dihydro-collidin

allerdings nicht identisches, Tiermodell ist die Hexachlorbenzol(HCB)-induzierte Porphyrie der Ratte (12 - 16).

Wir entschlossen uns deshalb, am Modell der HCB-induzierten hepatischen Porphyrie der Ratte die Wirkung und die Wirksamkeit von Chloroquin auf diese Porphyrin- und Haem-Stoffwechselstörung zu untersuchen.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. MATERIAL UND METHODEN

a) Tiere und Behandlung

200 g schwere weibliche Wistar-Ratten (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, BRD) wurden für diesen Versuch verwendet und vier verschiedene Gruppen eingeteilt. Alle Tiere erhielten eine Standarddiät (Altromin, Lage/Lippe, BRD) und hatten freien Zugang zu Futter und Wasser.

b) Versuchsanordnung

1. Unbehandelte Tiere
2. Chloroquin-Kontrolle
   Diese Tiere erhielten sechsmal wöchentlich Chloroquin in einer Dosis von 50 mg/kg (oral in Wasser, mit der Schlundsonde appliziert).
3. HCB-Kontrolle
   Die Tiere erhielten während der gesamten Versuchsdauer 0.05 % HCB-haltige Standarddiät.
4. HCB-Chloroquin
   Die Tiere wurden während der gesamten Versuchsdauer mit HCB-haltiger Diät gefüttert. Vom 60. Tag an wurden die Tiere zusätzlich bis zu sechs Wochen mit Chloroquin (50 mg/kg) behandelt.

In regelmäßigen Abständen wurde der Urin zur Bestimmung der Ausscheidung der Porphyrine und der Porphyrin-Vorstufen gesammelt. Vor, sowie eine, zwei und sechs Wochen nach Beginn der Chloroquin-Behandlung wurde jeweils ein Teil der Tiere getötet und die entsprechenden Parameter in der Leber untersucht.

c) Methoden

Die Ausscheidung der Gesamt-Porphyrine (17) und der Porphyrin-Vorstufen (δ-Aminolaevulinsäure (ALA) und Porphobilinogen (PBG)) (18) im Urin wurden mittels Ionenaustausch-Chromatographie bestimmt und die Gesamt-Porphyrine dünnschichtchromatographisch aufgetrennt (19, 20).

Im Leberhomogenat wurde der Cytochrom P-450-Gehalt nach MATSUBARA u. Mitarb. (21) und die O-Desalkylierungsaktivität für 7-Aethoxycumarin nach ULLRICH u. Mitarb. (22) gemessen. Die Analyse der Porphyrine in der Leber wurde in einem modifizierten Verfahren in Anlehnung an Doss u. Mitarb. (17) durchgeführt.

Die Lebern wurden im Verhältnis 1 : 50 (w/v) in 0.01 M Acetat-Puffer pH 4.5 homogenisiert und anschließend 1 ml dieses Homogenats auf eine Anionenaustauscher-Fertigsäule gebracht und wie beschrieben weiterverarbeitet (17).

Berechnung:
Normalverhältnis URO-/KOPRO-/PROTO-Porphyrin in der Leber = 1/3/13 (23).
Mittlerer Extinktionskoeffizient ($mM^{-1}cm^{-1}$) = 328 (24).
Mittleres Molekulargewicht der Mischung = 595.
Mittlerer Korrekturdivisor = 1.7 (25).

Gesamt-Porphyrine (µg/g Leber)

$$= \frac{E_S \text{ corr. x } 595 \text{ x Vol. (HCl) (ml) x Verdünnung}}{328 \text{ x d (cm)}}$$

$$= \frac{E_S \text{ corr. x } 595 \text{ x } 4 \text{ x } 50}{328 \text{ x } 1}$$

wobei E_S corr.

$$= \frac{2\,E_S - (E_{430} + E_{380})}{k}$$

d = Schichtdicke der Küvette

k = Korrekturdivisor

E_S = Extinktion im Soretmaximum.

Gesamt-Porphyrine in der Leber (µg/g)

$$= 2\,E_S - (E_{430} + E_{380}) \text{ x } 213.$$

Die erforderliche Mindestmenge an Leber beträgt für dieses Verfahren 30 mg. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 3 µg Porphyrinen/g Leber und die Wiederfin-

dungsrate im Homogenat beträgt ungefähr 70 %. Der Variationskoeffizient liegt für die Präzision in der Serie bei 5 bis 7 % und für getrennt hergestellte Homogenate des gleichen Gewebes bei 12 %. Da die untere Erfassungsgrenze für das hier vorgestellte modifizierte Verfahren bei 3 µg Porphyrinen/g Gewebe liegt, muß die Quantifizierung der Gesamt-Porphyrine in Geweben mit niedrigem Porphyrin-Gehalt dünnschichtchromatographisch unter Verwendung von Referenzsubstanzen erfolgen.

Für die Fraktionierung der Gesamt-Porphyrine wird das Eluat quantitativ in einen 50 ml Weithals-Erlenmeyerkolben überführt und der pH-Wert der Lösung mit festem $NaHCO_3$ auf 4.5 eingestellt. Anschließend gibt man 0.5 g Talcum hinzu, bindet daran die Porphyrine und führt die dünnschichtchromatographische Auftrennung nach DOSS (19, 20) durch.

In der Haut wurde die Bestimmung der Gesamt-Porphyrine bzw. der einzelnen Porphyrin-Fraktionen wie folgt durchgeführt:
1 g Rattenhaut wurden enthaart, mit der Schere zerkleinert und mit 25 ml 0.01 M Kaliumphosphat-Puffer pH 7.4 versetzt. Das Gewebe wurde über 5 x 20 sec. im Ultra-Turrax homogenisiert und anschließend noch für 30 sec. mit Ultraschall behandelt (Branson Sonifier B-12, 50 Watt). Nach Zugabe von 25 ml 5 N HCl wird intensiv gemischt und für 15 min. bei 1.000 g zentrifugiert. Der Überstand wird im Spektralphotometer gemessen. Die dünnschichtchromatographische Auftren-

nung der Porphyrine in der Haut wurde wie für die Leber beschrieben durchgeführt.

d) Materialien und Reagenzien

Hexachlorbenzol 98 % rein (Merck-Schuchardt, München, BRD), Ionenaustauscher-Fertigsäulen für Porphyrin-Bestimmungen (BioRad, München, BRD), DC-Alufolien Kieselgel 60 F (Merck, Darmstadt, BRD), 7-Hydroxycumarin (EGA-Chemie, Steinheim, BRD), URO-Porphyrin-octamethylester, KOPRO-Porphyrintetramethylester und PROTO-Porphyrindimethylester (Sigma Chemicals, St. Louis, USA).
Herrn Professor Dr. V. ULLRICH (Homburg/Saar, BRD) danken wir für die Überlassung von 7-Aethoxycumarin und der Bayer AG (Leverkusen, BRD) für das zur Verfügung gestellte Chloroquindiphosphat (Resochin^{R}).

2. ERGEBNISSE

Die HCB-Applikation führte zu einer signifikanten Vermehrung der Porphyrine in Urin, Leber und Haut. Im Urin war die Ausscheidung der Porphyrin-Vorstufen und der Gesamt-Porphyrine stark erhöht, wobei URO- und HEPTA-Porphyrine die vorherrschenden Metaboliten waren. Bereits nach sieben Tagen Chloroquin-Applikation läßt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den HCB- und HCB-Chloroquin-behandelten Tieren fest-

stellen (s. Abb. 1). Während sich die stark erhöhte Ausscheidung der Porphyrin-Vorstufen im Urin normalisierte, sank die Ausscheidung der Gesamt-Porphyrine nur auf die Hälfte im Vergleich zu den entsprechenden HCB-Kontrollen ab.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen, d.h. nach zwei, vier und sechs Wochen Chloroquin-Gabe (und Fortsetzung der HCB-Applikation), kommt es zu einer erneuten Steigerung der ALA- und PBG-Ausscheidung, während die Gesamt-Porphyrin-Ausscheidung weiterhin um etwa 100 % niedriger als bei den HCB-Kontrollen liegt. Die dünnschichtchromatographische Auftrennung der Porphyrine im Urin ergibt, daß alle durch HCB vermehrten Porphyrin-Metaboliten in ähnlicher Weise durch Chloroquin gesenkt werden (s. Tab. 1).

In den Lebern der Versuchstiere wird unter Chloroquin-Gabe der Porphyrin-Gehalt kontinuierlich gemindert, wobei die einzelnen Porphyrin-Fraktionen prozentual gleichmäßig erniedrigt werden. Allerdings ist zum Abschluß der Versuche (sechs Wochen) noch keine Normalisierung der Porphyrin-Konzentration in der Leber erreicht (s. Tab. 2).

Die Porphyrin-Akkumulation in der Haut erfolgte, im Vergleich zur Leber, mit Verzögerung. Ein Plateau war nach 60 Tagen HCB-Applikation noch nicht erreicht, worauf die Zunahme der URO- und HEPTA-Porphyrine und die Abnahme der PROTO-Porphyrin-Fraktion im weiteren Versuchsverlauf hinweist. Auffällig ist die unterschiedliche Verteilung der Porphyrin-Fraktionen in Le-

ber und Haut sowohl bei HCB-exponierten als auch bei unbehandelten Tieren. In der Leber der HCB-Tiere herrschen URO- und HEPTA-Porphyrine zu etwa 80 bis 90 % vor, in der Haut zu 50 bis 60 %. Während in der Leber von Kontrolltieren der PROTO-Porphyrin-Anteil überwiegt, sind in der Haut überwiegend URO- und HEPTA-Porphyrine vorhanden. Chloroquin hat keinen Einfluß auf den Porphyrin-Gehalt und die -Verteilung in der Haut. Bei porphyrischen Tieren jedoch bewirkt die Chloroquin-Gabe eine weitgehend gleichmäßige Erniedrigung aller Porphyrin-Fraktionen (s. Tab. 3).

Die HCB-Applikation führte zu einer Steigerung des Cytochrom P-450-Gehaltes und der Aktivität (gemessen an der Desalkylierung von 7-Aethoxycumarin) in der Leber, verglichen mit unbehandelten Tieren und Chloroquin-Kontrollen. Bemerkenswert ist die Senkung des durch HCB induzierten Cytochrom P-450-Gehaltes in der Leber der Chloroquin-behandelten Tiere auf Werte der Kontrollen. Im Gegensatz dazu wird die Cytochrom P-450-abhängige, HCB-induzierte enzymatische Aktivität durch die Chloroquin-Applikation nicht beeinflußt (s. Tab. 4).

Abbildung 1:
Ausscheidung der Gesamt-Porphyrine und der Porphyrin-Vorstufen (ALA, PBG) im Urin.
Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichung aus mindestens jweils vier Tieren.
Da sich die Werte für Chloroquin-behandelte und unbehandelte Tiere nicht unterschieden, wurde auf die Darstellung der Werte für Chloroquin-behandelte Tiere verzichtet. Weiterhin ist aus Gründen der Übersichtlichkeit die Standardabweichung für Werte der unbehandelten Tiere weggelassen.

● HCB ○ HCB-Chloroquin ▲ unbehandelte Kontrollen

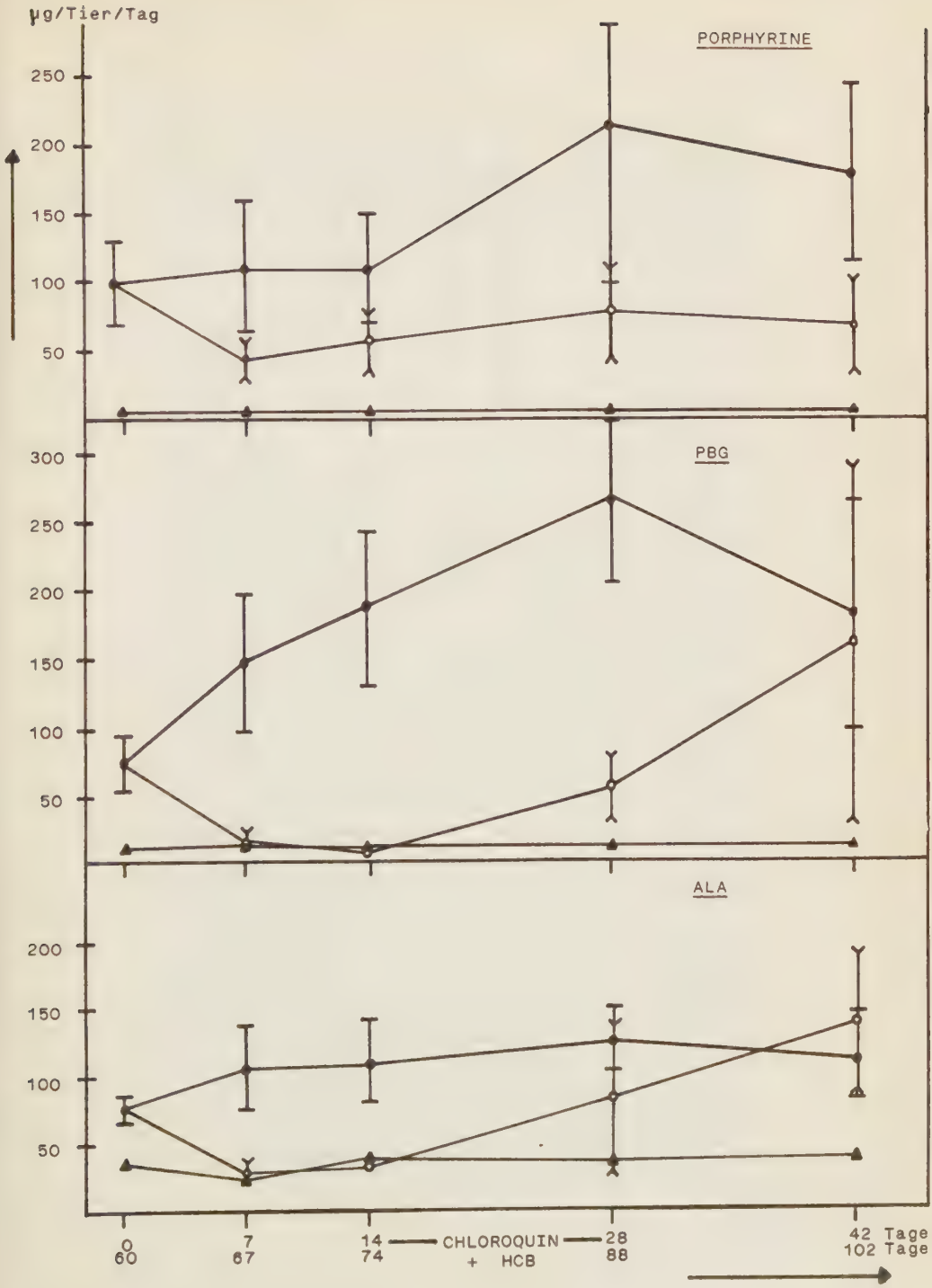
µg/Tier/Tag
PORPHYRINE
250
200
150
100
50
PBG
300
250
200
150
100
50
ALA
200
150
100
50
0
60
7
67
14
74
CHLOROQUIN
+ HCB
28
88
42 Tage
102 Tage

Tabelle 1:
Porphyrin-Ausscheidung im Urin und dünnschichtchromatographische Auftrennung der Gesamt-Porphyrine.
Die Zahlen stellen Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) von jeweils vier untersuchten Tieren dar. Die Werte für die Kontrollen (unbehandelte und Chloroquin-behandelte Tiere) am 67., 74. und 88. Tag glichen denen am 102. Tag und wurden deshalb nicht aufgeführt.

	Gesamt-Porphyrine	URO	HEPTA	HEXA	PENTA	KOPRO	TRI	PROTO
	µg/Tier/Tag	%	%	%	%	%	%	%
60 Tage HCB								
HCB	99 ± 30	54 ± 11	7 ± 10	5 ± 7	0	26 ± 15	0	8 ± 11
67 Tage HCB/ 7 Tage Chloroquin								
1. HCB	112 ± 46	48 ± 4	11 ± 4	7 ± 2	4 ± 1	26 ± 7	0	4 ± 3
2. HCB-Chloroquin	45 ± 14	50 ± 15	12 ± 3	6 ± 3	3 ± 2	27 ± 10	0	1 ± 1
74 Tage HCB/14 Tage Chloroquin								
1. HCB	110 ± 40	46 ± 5	10 ± 5	8 ± 1	1 ± 1	25 ± 6	1 ± 1	9 ± 4
2. HCB-Chloroquin	57 ± 22	44 ± 7	9 ± 3	2 ± 3	2 ± 3	38 ± 6	1 ± 2	5 ± 3
88 Tage HCB/28 Tage Chloroquin								
1. HCB	217 ± 116	50 ± 8	9 ± 7	6 ± 4	2 ± 1	27 ± 9	0	6 ± 5
2. HCB-Chloroquin	82 ± 34	64 ± 19	4 ± 4	1 ± 2	0	22 ± 12	0	9 ± 13
102 Tage HCB/42 Tage Chloroquin								
1. HCB	180 ± 63	53 ± 3	11 ± 3	4 ± 3	2 ± 4	18 ± 7	1 ± 1	12 ± 10
2. HCB-Chloroquin	74 ± 34	41 ± 9	6 ± 1	2 ± 2	6 ± 12	28 ± 12	2 ± 2	14 ± 8
3. Chloroquin-Kontrollen	6 ± 3	3 ± 3	0	0	1 ± 1	66 ± 12	0	29 ± 5
4. Basal	9 ± 5	11 ± 5	3 ± 3	0	1 ± 1	49 ± 16	4 ± 7	33 ± 15

Tabelle 2:
Porphyrin-Gehalt der Leber und dünnschichtchromatographische Auftrennung der Gesamt-Porphyrine.
Die Zahlen stellen Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) von jeweils vier Tieren dar.

	Gesamt-Porphyrine	URO	HEPTA	HEXA	PENTA	KOPRO	TRI	PROTO
	µg/g Leber	%	%	%	%	%	%	%
67 Tage HCB/ 7 Tage Chloroquin								
1. HCB	363 ± 29	66 ± 18	20 ± 2	0	0	5 ± 5	4 ± 2	5 ± 1
2. HCB-Chloroquin	214 ± 74	74 ± 5	21 ± 4	0	5 ± 2	0	0	3 ± 2
3. Chloroquin-Kontrollen	0.3 ± 0.07	12 ± 1	0	0	0	20 ± 2	0	77 ± 6
4. Basal	0.4 ± 0.07	9 ± 4	0	0	0	17 ± 7	0	74 ± 8
102 Tage HCB/42 Tage Chloroquin								
1. HCB	306 ± 61	72 ± 7	24 ± 4	0	0	0	0	4 ± 2
2. HCB-Chloroquin	169 ± 63	72 ± 7	26 ± 8	0	0	0	0	2 ± 2
3. Chloroquin-Kontrollen	0.3 ± 0.03	8 ± 3	0	0	0	17 ± 2	0	75 ± 13
4. Basal	0.4 ± 0.1	9 ± 2	0	0	0	22 ± 6	0	69 ± 8

Tabelle 3:
Gesamt-Porphyrine in der Haut und dünnschichtchromatographische Auftrennung.
Die Zahlen stellen Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) von jeweils vier Tieren dar.

	Gesamt-Porphyrine	URO	HEPTA	HEXA	PENTA	KOPRO	TRI	PROTO
	µg/g Haut	%	%	%	%	%	%	%
67 Tage HCB/ 7 Tage Chloroquin								
1. HCB	14.7 ± 5.5	39 ± 15	21 ± 8	6 ± 2	5 ± 3	4 ± 2	10 ± 6	16 ± 10
2. HCB-Chloroquin	10.1 ± 4.6	35 ± 14	20 ± 7	4 ± 1	2 ± 1	16 ± 9	5 ± 3	19 ± 14
3. Chloroquin-Kontrollen	0.9 ± 0.3	39 ± 8	10 ± 7	3 ± 2	3 ± 2	8 ± 4	17 ± 5	25 ± 8
4. Basal	0.5 ± 0.3	39 ± 16	9 ± 3	0	0	10 ± 4	15 ± 9	27 ± 10
102 Tage HCB/42 Tage Chloroquin								
1. HCB	49.0 ± 14.8	59 ± 8	27 ± 11	6 ± 2	0	2 ± 2	0	7 ± 4
2. HCB-Chloroquin	26.1 ± 7.5	53 ± 15	25 ± 9	4 ± 2	3 ± 2	6 ± 6	3 ± 2	8 ± 4
3. Chloroquin-Kontrollen	1.0 ± 0.4	36 ± 4	18 ± 7	1 ± 1	2 ± 2	8 ± 1	7 ± 8	28 ± 11
4. Basal	0.8 ± 0.3	44 ± 14	12 ± 6	0	0	10 ± 2	9 ± 4	25 ± 16

Tabelle 4:
Untersuchungsbefunde der Leber (Gewicht, Cytochrom P-450-Gehalt, 7-Aethoxycumarin-Desalkylierungs-Aktivität) der unterschiedlich behandelten Versuchstiere.
Die Zahlen stellen Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) aus jeweils vier Tieren dar.

	Leber (g)	Cytochrom P-450 (uMol/g Leber)	7-Aethoxycumarin-Desalkylierung (nMol Umbelliferon x mg^{-1} x min^{-1})
67 Tage HCB/ 7 Tage Chloroquin			
1. HCB	10.1±1.4	87± 8	1.31±0.08
2. HCB-Chloroquin	11.5±0.6	80±20	1.52±0.31
3. Chloroquin-Kontrollen	6.1±0.3	30± 7	0.18±0.04
4. Basal	6.1±0.7	34± 6	0.12±0.04
74 Tage HCB/14 Tage Chloroquin			
1. HCB	10.5±1.1	181±49	1.30±0.13
2. HCB-Chloroquin	11.4±1.3	66±22	1.33±0.18
3. Chloroquin-Kontrollen	5.9±0.1	33± 7	0.24±0.06
4. Basal	5.9±0.3	34± 5	0.09±0.04
102 Tage HCB/42 Tage Chloroquin			
1. HCB	10.2±1.5	156±41	1.38±0.23
2. HCB-Chloroquin	11.1±0.8	44±20	1.15±0.29
3. Chloroquin-Kontrollen	5.8±0.2	28± 7	0.16±0.09
4. Basal	5.8±0.3	31± 8	0.12±0.05

III. DISKUSSION

In zahlreichen Arbeiten ist die Wirksamkeit der Chloroquin-Therapie bei der menschlichen Porphyria cutanea tarda nachgewiesen worden (1, 3, 5, 6, 7, 26 - 31), wobei die niedrig dosierte Applikation nach KORDAC und SEMRADOVA (3) besonders geeignet zu sein scheint. Der Wirkungsmechanismus dieser Behandlung ist noch nicht endgültig abgeklärt, wenngleich die Arbeitsgruppe um SCHOLNICK (6, 7) zeigen konnte, daß sich ein Porphyrin-Chloroquin-Komplex bildet, wodurch es zu einer verstärkten Eliminierung der Porphyrine aus der Leber kommt. Hierbei soll in erster Linie die Chloroquin-Beeinflussung der Lysosomen, in denen die Porphyrine gespeichert werden, maßgeblich sein (32 - 34).

Ein derartiger Wirkungsmechanismus kann nur dann zur Minderung der im Organismus und besonders in der Leber abgelagerten Porphyrine führen, wenn zunächst die Porphyrin-Ausscheidung gesteigert wird.

Die hier vorgelegten Untersuchungsbefunde zeigen nach einer Woche Chloroquin-Gabe bei der HCB-induzierten Porphyrie der Ratte neben der Senkung der Porphyrin-Ausscheidung eine Normalisierung der Exkretion der Porphyrin-Vorstufen (ALA und PBG). Wenn man annimmt, daß eine gesteigerte Porphyrin-Ausscheidung durch Komplexbildung von Porphyrinen mit Chloroquin in den ersten (von uns nicht untersuchten) Tagen vorgelegen hat, so ist ein derartiger Befund nur bei einer Minderung der Porphyrin-

Biosynthese vorstellbar. Eine vorangegangene vermehrte Eliminierung von PBG und ALA ist nicht zu erwarten, da zwischen diesen Porphyrin-Vorstufen und Chloroquin keine Komplexbildung nachweisbar war (7).

Nach sechswöchiger Chloroquin-Gabe, bei gleichzeitig unveränderter HCB-Exposition, bleibt die Porphyrin-Ausscheidung im Vergleich zu den Kontrollen erniedrigt. Da es aber zu einer erneut gesteigerten Ausscheidung der Porphyrin-Vorstufen kommt, ist es vorstellbar, daß die HCB-bedingte Haem-Biosynthese-Störung nicht vollständig und nur zeitweilig durch Chloroquin kompensiert wird.

Die Untersuchungen in den Geweben (Leber und Haut) zeigen, daß es unter Chloroquin zu einem kontinuierlichen Absinken der Porphyrine kommt. Hierbei werden unabhängig von der Zahl der Carboxylgruppen alle Porphyrine in ähnlicher Weise beeinträchtigt, so daß sich der prozentuale Anteil der einzelnen Fraktionen nicht verschiebt.

Eine Beeinflussung der Haem-Biosynthese durch Chloroquin wäre bei der mannigfaltigen Wirkung dieses Chinolin-Derivates in verschiedener Weise möglich: durch die Hemmung der DNS-, der RNS- oder der Protein-Synthese (35 - 39). Dies ist jedoch bei der hier gewählten Dosierung kaum zu erwarten, da DELPINO u. Mitarb. (40) bei Anwendung einer vergleichbaren Chloroquin-Dosis sogar eine Steigerung der RNS- und Protein-Synthese in der Rattenleber nachweisen konnten. Die unveränderten Lebergewichte und deren Protein-Gehalt bei unseren Tie-

ren sprechen ebenfalls gegen die Hemmung der RNS- oder Protein-Synthese.

Bemerkenswert ist der Einfluß des Chloroquins auf das Arzneimittel-metabolisierende Enzym-System der Leber, das durch HCB massiv induziert worden ist. Chloroquin wird durch Desaethylierung, Desaminierung und Abspaltung der Seitenkette über dieses Cytochrom P-450-System abgebaut (41 - 43). Nach den Untersuchungen von DAVIS u. Mitarb. (41) wird das beim Affen durch Diphenylhydantoin induzierte Cytochrom P-450 unter Chloroquin nicht verändert. Im Gegensatz dazu sahen EDMUNDSON u. Mitarb. (44) bei Arbeitern, die mit Pflanzenschutzmitteln umgehen, erhöhte Spiegel an DDT[1)] und DDE[2)] unter Chloroquin, was mit einer Hemmung des Cytochrom P-450-Systems erklärbar ist. In den hier vorgelegten Untersuchungen normalisiert Chloroquin die HCB-induzierte Steigerung des Cytochrom P-450-Gehaltes in der Leber, allerdings ohne Beeinflussung der davon abhängigen Enzym-Reaktion, der Desaethylierung des 7-Aethoxycumarins. Damit ist es unwahrscheinlich, daß die Änderung des Cytochrom P-450-Gehaltes durch eine Chloroquin-bedingte Hemmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase oder eine verminderte NADPH-Bildung ausgelöst wird, weil sonst auch die enzymatische 7-Aethoxycumarin-Desalkylierung gehemmt werden müßte. Wir halten auch die Ausbildung eines Substrat-gebundenen Cytochrom P-450-Intermediär-Komplexes nach FRANKLIN (45) als Ursache für die Normalisierung des

---

1) DDT = 1,1,1-Trichlor-2,2-bis(p-chlorphenyl)aethan
2) DDE = 1,1-Dichlor-2,2-bis(p-chlorphenyl)aethylen

Cytochrom P-450-Gehaltes bei unveränderter Enzym-Aktivität für weitgehend ausgeschlossen. Außerdem führte die in vitro-Zugabe von Chloroquin in unterschiedlichen Konzentrationen nicht zu einer Beeinflussung der Cytochrom P-450-Gehaltsbestimmung.

Damit muß angenommen werden, daß neben der Komplexbildung zwischen Chloroquin und den Porphyrinen eine Hemmung der Haem-Biosynthese durch das Medikament eine Rolle spielt.

Die Aktivitätsveränderung SH-abhängiger Enzyme durch Chloroquin (46 - 49) legt die Vermutung nahe, daß auch die SH-abhängigen Enzyme der Haem-Biosynthese (ALA-Dehydratase, Porphyrinogen-Decarboxylasen, Ferrochelatase) und des Haem-Abbaues (Haem-Oxygenasen) durch Chloroquin beeinflußt werden.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Bei weiblichen WISTAR-Ratten wurde durch Applikation von 0,05 % Hexachlorbenzol(HCB)-Futterzusatz eine Porphyrie erzeugt. Anschließend wurden die Tiere über maximal sechs Wochen zusätzlich mit Chloroquin (50 mg/kg/Tag) behandelt und mit entsprechenden Kontrollgruppen verglichen.

Chloroquin bewirkte innerhalb von ein bis zwei Wochen einen Ausgleich der HCB-bedingten Steigerung der Ausscheidung von δ-Aminolaevulinsäure (ALA) und Porphobilinogen (PBG). Während die Porphyrin-Ausscheidung nur auf die Hälfte der HCB-Kontrollen abfiel und über die gesamte Versuchsdauer gesenkt blieb, stieg die ALA- und die PBG-Ausscheidung nach sechs Wochen wieder auf die Werte der HCB-Kontrollen an.

In der Leber und in der Haut der Chloroquin-behandelten, HCB-exponierten Tiere sank der Porphyrin-Gehalt kontinuierlich ab, blieb aber noch pathologisch erhöht. Der Cytochrom P-450-Gehalt normalisierte sich unter der Chloroquin-Gabe, während die enzymatische Funktion in Form der 7-Aethoxycumarin-Desalkylierung nicht verändert wurde.

Die Befunde zeigen eindeutig, daß Chloroquin bei der HCB-Porphyrie der Ratte zu einer Veränderung des Porphyrin-Stoffwechsels führt und daß die Wirkung nicht allein auf einer vermehrten Porphyrin-Eliminierung durch die Bildung von Chloroquin-Porphyrin-Konjugaten bedingt sein kann.

V. LITERATUR

1. GOERZ, G., KRIEG, Th.:
Porphyria cutanea tarda: Therapie-Möglichkeiten und -Ergebnisse.
Dtsch. med. Wschr. 103, 1329-1333 (1978)

2. IPPEN, H.:
Allgemeinsymptcme der späten Hautporphyrie (Porphyria cutanea tarda) als Hinweis für deren Behandlung.
Dtsch. med. Wschr. 86, 127-133 (1961)

3. KORDAC, V., SEMRADOVA, M.:
Treatment of porphyria cutanea tarda with chloroquine.
Brit. J. Derm. 90, 95-100 (1974)

4. IPPEN, H.:
Treatment of Porphyria cutanea tarda by phlebotomy.
Semin. Hematol. 14, 253-259 (1977)

5. SWANBECK, G., WENNERSTEN, G.:
Treatment of Porphyria cutanea tarda with chloroquine and phlebotomy.
Brit. J. Derm. 97, 77-81 (1977)

6. SCHOLNICK, P., MARVER, H.:
The molecular basis of chloroquine responsiveness in porphyria cutanea tarda.
Clin. Res. 16, 258 (1968)

7. SCHOLNICK, P., PERRY, L., EPSTEIN, J., MARVER, H.:
The molecular basis of the action of chloroquine in porphyria cutanea tarda.
J. Invest. Derm. 61, 226-232 (1973)

8. DESHPANDE, S.G., KANDHARI, F.C., BIKHCHANDANI, R., BHUTANI, L.K.:
Study of the effects of certain drugs on experimental porphyria in rats.
Dermatologica 154, 284-290 (1977)

9. TSCHUDY, D.P., BONKOWSKY, H.L.:
Experimental porphyria.
Fed. Proc. 31, 147-159 (1972)

10. ELDER, G.H., LEE, G.B., TOVEY, J.A.:
Decreased activity of hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in sporadic porphyria cutanea tarda.
New Engl. J. Med. 299, 274-278 (1978)

11. FELSHER, B.F., NORRIS, M.E., SHIH, J.C.:
Red cell uroporphyrinogen decarboxylase activity in porphyria cutanea tarda and in other forms of porphyria.
New Engl. J. Med. 299, 1095-1098 (1978)

12. DOSS, M., SCHERMULY, E., KOSS, G.:
Hexachlorobenzene porphyria in rats as a model for human chronic hepatic porphyria.
Ann. Clin. Res. 8, 171-181 (1976)

13. DeMATTEIS, F., STONARD, M.:
Experimental porphyrias as models for human hepatic porphyrias.
Semin. Hematol. 14, 187-192 (1977)

14. GOERZ, G., VIZETHUM, W. BOLSEN, K., KRIEG, Th., LISSNER, R.:
Hexachlorbenzol(HCB)-bedingte Porphyrie der Ratte. Einfluß von HCB-Metaboliten auf die Haembiosynthese.
Arch. Derm. Res. 263, 189-196 (1978)

15. GOERZ, G., KRIEG, Th., BOLSEN, K., LISSNER, R.:
Langzeit-Exposition von Ratten mit Hexachlorbenzol (HCB). Einfluß auf das Cytochrom P-450 in der Leber und die Porphyrin-Ausscheidung.
Arch. Derm. Res. 259, 199-206 (1977)

16. LOUW, M., NEETHLING, A.C., SHANLEY, B.C., PERCY, V.A., CARSTENS, M.:
Effect of iron and hexachlorobenzene on liver haem biosynthesis.
S. Afr. Med. J. 51, 945 (1977)

17. DOSS, M., SCHMIDT, A.:
Rapid determination of urinary total porphyrins by ion exchange chromatography.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9, 415-420 (1971)

18. DOSS, M., SCHMIDT, A.:
Quantitative Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure im Urin mit Ionenaustauschchromatographie-Fertigsäulen.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9, 99-102 (1971)

19. DOSS, M.:
Trennung, Isolierung und Bestimmung von Proto-, Kopro-, Pentacarboxy-, Hexacarboxy-, Heptacarboxy- und Uroporphyrin.
Hoppe-Seylers' Z. Physiol. Chem. 350, 499-502 (1969)

20. DOSS, M.:
Analytical and preparative thin-layer chromatography of porphyrin methyl esters.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8, 197-207 (1970)

21. MATSUBARA, T., KOIKE, M., TOUCHI, A., TOCHINO, Y., SUGENO, K.:
Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate.
Anal. Biochem. 75, 596-603 (1976)

22. ULLRICH, V., WEBER, P.:
The O-dealkylation of 7-ethoxycoumarine by liver microsomes.
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 1171-1177 (1972)

23. DOSS, M.:
Differenzierung der Porphyrien und Porphyrinstoffwechselstörungen.
Krankenhausarzt 50, 111-114 (1977)

24. RIMINGTON, C.:
Spectral-absorption coefficients of some porphyrins in the Soret-band region.
Biochem. J. 75, 620-623 (1960)

25. WITH, T.K.:
Porphyrin concentration from ultraviolet extinction.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 7, 193-194 (1955)

26. HUNTER, G.A., DONALD, G.F.:
The treatment of cutaneous porphyria.
Australas. J. Derm. 18, 1-3 (1977)

27. FELSHER, B.F., REDEKER, A.G.:
Effect of chloroquine on hepatic uroporphyrin metabolism in patients with porphyria cutanea tarda.
Medicine 45, 575-583 (1966)

28. VOGLER, W.R., GALAMBOS, J.T., OLANSKY, S.:
Biochemical effects of chloroquine therapy in porphyria cutanea tarda.
Amer. J. Med. 49, 316-321 (1970)

29. DONALD, G.F., HUNTER, G.A., ROMAN, W., TYLOR, A.E.:
The treatment of cutaneous porphyria with chloroquine or d-penicillamine.
Brit. J. Derm. 83, 702-703 (1970)

30. BLOOM, M.:
Porphyria cutanea tarda treated with chloroquine phosphate.
Arch. Derm. 100, 375-376 (1969)

31. SALTZER, E.I., REDEKER, A.G., WILSON, J.W.:
Porphyria cutanea tarda. Remission following chloroquine administration without adverse effects.
Arch. Derm. 98, 496-498 (1968)

32. SVERVE, O.L., SCHOFIELD, B.:
Inactivation of lysosomal function in normal cultured human fibroblasts by chloroquine.
Biochem. Pharmacol. 22, 3109-3114 (1973)

33. REIJUGOUD, D.-J., TAGER, J.M.:
Chloroquine accumulation in isolated rat liver lysosomes.
FEBS Letters 64, 231-235 (1976)

34. LÜLLMANN, H., LÜLLMANN-RAUCH, R., WASSERMANN, O.:
Drug-induced phospholipides.
CRC Critical Rev. Toxicol. 4, 185-218 (1975)

35. GAUDIN, G., GREGG, R.S., YIELDING, K.L.:
Inhibition of DNA repair replication by DNA binding drugs which sensitize cells to alkylating agents and X-rays.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 141, 543-547 (1972)

36. KARMALI, R., SCHILLER, P.W., HORROBIN, D.F.:
Prostaglandins can prevent the bindung of chloroquine to calf thymus DNA.
Prostaglandins 3, 463-465 (1976)

37. LEFLER, C.F., LILJA, H.S., HOLBROOK jr., D.J.:
Inhibition of aminoacylation and polypeptide synthesis by chloroquine and primaquine in rat liver.
Biochem. Pharmacol. 22, 715-728 (1973)

38. HOLBROOK jr., D.J., WHICHARD, L.P., WASHINGTON, M.E.:
Effect of nucleic-acid-binding compounds on the hydrolytic activity of various ribonucleases.
Eur. J. Biochem. 60, 317-324 (1975)

39. PAZMINO, N.H., YUHAS, J.M., TENNANT, R.W.:
Inhibition of murine RNA tumor virus replication and oncogenesis by chloroquine.
Int. J. Cancer 14, 379-385 (1974)

40. DELPINO, A., FERRINI, U.:
Protein synthesis stimulation in rat liver by chloroquine.
Experientia 28, 1061-1063 (1972)

41. DAVIS, J.E., CRANMER, M.F., PEOPLES, A.J.:
Effects of diphenylhydantoin and chloroquine on monkey liver microsomal mixed -function oxidases.
J. Toxicol. Environ. Health 2, 1193-1199 (1977)

42. VIALA, A., DURAND, A., CANO, J.-P., JOUGLARD, J.:
La chloroquine: sort dans l'organisme et toxicologie analytique.
Eur. J. Toxicol. 5, 189-202 (1972)

43. THOMPSON, P.E., WERBEL, L.M.:
Antimalarial agents / chemistry and pharmacology.
Academic Press, New York-London (1972)

44. EDMUNDSON, W.F., DAVIES, J.E., NACHMAN, G.A., ROETH, R.L.:
p'p'-DDT and p'p'-DDE in blood samples of occupationally exposed workers.
Public Health Rep. 84, 53-58 (1969)

45. FRANKLIN, M.R.:
Inhibition of mixed-function oxidations by substrates forming reduced cytochrome P-450 metabolic-intermediate complexes.
Pharmac. Ther. A. 2, 227-245 (1977)

46. SIMON, H., KEMMER, Chr., MÜLLER, M.:
Über die Wirkung hoher Chlorochin- und Prednisongaben auf Fermente und Strukturen der Leberepithelzellen weißer Ratten.
Frankfurt. Z. Path. 74, 109-120 (1964)

47. GERBER, D.A.:
Sulfhydryl group reactivity and rheumatoid arthritis.
Bull. N.Y. Acad. Med. 42, 408 (1966)

48. RUBIN, M., SLONICKI, A.:
A mechanism for the toxicity of chloroquine.
Arthr. and Rheum. 9, 537 (1966)

49. WALLER, H.D., LÜER, S., BENÖHR, H.Chr.:
Stoffwechselwirkungen von Chloroquin und Primaquin in Erythrozyten.
Klin. Wschr. 51, 1185-1190 (1973)

Mein Dank gebührt Herrn Professor Dr. med. Dr. phil. A. GREITHER, dem Direktor der Hautklinik der Universität Düsseldorf, für die mir gebotene Möglichkeit, an seiner Klinik zu arbeiten.

Herrn Professor Dr. med. G. GOERZ bin ich für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates dankbar.

Ich möchte mich an dieser Stelle auch bei Herrn Dr. rer. nat. W. VIZETHUM und Herrn K. BOLSEN für viele nützliche Ratschläge und Hinweise bedanken.

LEBENSLAUF

5. 3.1944	als Sohn der Eheleute Walter Dahlmann und Wilhelmine, geb. Liesfeld in Detmold geboren
1950 bis 1954	Besuch der Volksschule in Detmold
17. 3.1962	Realschulabschluß in Detmold
1. 4.1962 bis 30. 5.1969	Beamter beim Regierungspräsidenten in Detmold, später beim Landesamt für Besoldung und Versorgung in Düsseldorf
Juli 1965 bis 31. 1.1969	Abendgymnasium der Stadt Düsseldorf Abitur dort
15.10.1969 bis 15. 2.1970	Jurastudium in Köln
15. 4.1970 bis 15. 7.1973	Medizinstudium in Köln
15.10.1973 bis 15. 7.1977	Zahnmedizinstudium in Düsseldorf
8. 7.1977	Zahnärztliche Prüfung
Seit dem 1. 8.1977	als Assistent in verschiedenen Zahnarztpraxen tätig